Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 16, No. 2, June. July. 2020, p. 235- 249

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 16، شماره 2، خرداد- تیر 1399 ص. 249-235

اثر نیتریک اکسید و دما بر حفظ کیفیت آریل انار رقم ملس

مریم ماندگاری[1]- عبدالمجید میرزاعلیان دستجردی[2*]- لاله مشرف[3]- مریم تاتاری[4]

تاریخ دریافت: 1397/12/28
تاریخ پذیرش: 1398/05/26

چکیده

شکل ظاهری میوه مهمترین شاخص ارزیابی بازارپسندی آن است. وجود هرگونه علایم آلودگی، پوسیدگی و نرم‌شدگی طی انبارمانی باعث کاهش بازارپسندی آن می‌شود. به‌منظور ارزیابی اثرات تیمار طبیعی و دما بر ویژگی‌های کمی و کیفی در مرحله پس از برداشت آریل انار، آزمایشی در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان انجام گرفت. در این پژوهش عوامل مورد بررسی شامل نیتریک اکسید به‌عنوان ترکیب طبیعی (با غلظت‌های صفر، 5 و10 میکرومولار) و دما (2، 4 و 8 درجه سانتی‌گراد) بود. خواص مختلف کیفی میوه درفاصله زمانی هفت روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، غلظت 10 میکرومولار نیتریک اکسید و نگهداری در دمای 8 درجه سانتی‌گراد نقش مؤثرتری را نسبت به سایر تیمارها بر ویژگی‌های افت وزن، حفظ مواد جامد محلول، اسید آسکوربیک، فنل کل، آنتوسیانین، آنزیم پراکسیداز، شاخص طعم و ظرفیت آنتی‌اکسیدان داشت و به‌طور چشمگیری باعث کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید و نشت الکترولیت در طول انبارمانی شد. با گذشت زمان میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تمام تیمارها افزایش یافت. اما آریل‌های تیمار شده کمترین میزان فعالیت آنزیم را داشتند. آریل‌های تیمارشده با 10 میکرومولار نیتریک اکسید در دمای 8 درجه سانتی‌گراد بالاترین کیفیت ظاهری را داشتند.

واژه‌های کلیدی: آریل انار، نیتریک اکسید، پلی‌فنل اکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کیفیت میوه.

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. از خانواده Puicaceae است که خاستگاه آن را ایران و کشورهای همجوارش دانسته‌اند (Singh *et al*.,2013). میوه این گیاه چرمی و تا اندازه‌ای ضخیم است که تعداد زیادی دانه‌های گوشتی موسوم به آریل را دربر می‌گیرد (Chaturvedula *et al*., 2011). امروزه عرضه انار به‌صورت آریل راهکاری مناسب برای دستیابی به بهره‌وری اقتصادی و سود تجاری از میوه انار به‌ویژه برای میوه‌هایی که ظاهر آن‌ها دچار صدمه شده است، می‌باشد (Lopez-Rubira *et al*., 2005). حساسیت به دمای پایین با ظهور علایم سرمازدگی از مشکلات عمده پس از برداشت محصولات مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است. این پدیده باعث محدود کردن انبارمانی و کاهش کیفیت محصولات حساس می‌گردد. تغییر واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مختلف در داخل میوه به‌همراه وقوع نابسامانی‌های ظاهری از علایم اصلی سرمازدگی می‌باشد. عمومی‌ترین علایم سرمازدگی در انار شامل ظهور لکه‌های فرو رفته در سطح میوه، رنگ پریدگی آریل‌ها، قهوه‌ای شدن پرده‌های سفید رنگی که دانه را از هم جدا می‌کنند و در نهایت حساسیت بالا به پوسیدگی قارچی است (Mirdehghan and Rahemi, 2002). با توجه به اینکه شکل ظاهری میوه مهم‌ترین شاخص بازارپسندی آن است، بنابراین هر عاملی که سبب کاهش پیری و مانع توسعه علائم پوسیدگی شود باعث بهبود وضعیت ظاهری و بازارپسندی محصول خواهد شد. یکی از روش‌های رایج در کاهش ضایعات، استفاده از ترکیبات شیمیایی می‌باشد. امروزه با توجه به مضرات استفاده از مواد شیمیایی برای انسان و محیط زیست، رویکردهای جدیدی در استفاده از موادی که اثرات سوء و زیان‌آوری در انسان و محیط به‌همراه نداشته باشند، حائز اهمیت است.

نیتروژن مونوکسید یا نیتریک اکسید یک رادیکال آزاد گازی شکل بسیار فعال است که نقش حیاتی و مهمی را در تنظیم فعالیت‌های

1- دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان
2- استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان
3- استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.
4- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی- باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.
(*-نویسنده مسئول: Email: majiddastjerdy@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v16i2.79791

فیزیولوژیکی و رشد و نمو گیاه ایفا می‌کند (Li *et al*., 2014). اخیراً کاربرد غلظت‌های کم گاز نیتریک اکسید به‌منظور افزایش عمر انباری برخی از میوه‌ها و سبزی‌ها مؤثر گزارش شده است (Shi *et al*., 2012). نیتریک اکسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی، نقش مهمی در مقاومت گیاه و از بین بردن رایکال‌های آزاد دارد (Zhou *et al*., 2016). در بررسی تأثیر نیتریک اکسید در میوه پاپایا، نیتریک اکسید نقش مهمی در کاهش افت وزن و حفظ سفتی و تأخیر تغییر رنگ میوه، کاهش پوسیدگی و مواد جامد محلول در طی 20 روز انبارمانی داشت (Li *et al*., 2014). همچنین در میوه‌های تیمار شده، میزان کاهش ویتامین ث نسبت به شاهد با سرعت کمتری اتفاق افتاد. تیمار با نیتریک اکسید می‌تواند باعث جلوگیری از تولید اتیلن، کاهش تنفس و در نتیجه باعث کاهش سرعت شکسته شدن پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی و تاخیر در افزایش مواد جامد محلول در میوه کیوی گردد (Shuhua *et al*., 2008). عبدالهی و همکاران (2013) نشان دادند که نیتریک اکسید به‌طور چشمگیری پوسیدگی قارچی را در میوه توت‌فرنگی کنترل کرد و سرعت افت کیفیت میوه را کاهش داد. باوجود اهمیت تغذیه‌ای آریل انار، تاکنون تحقیقات اندکی در ایران در رابطه با چگونگی حفظ کیفیت آن در مدت نگهداری صورت گرفته است. با توجه به خطر استفاده نادرست از مواد شیمیایی موجود در فناوری پس از برداشت و تقاضای مصرف کننده برای محصولات سالم، مطالعه در مورد تیمارهای پس از برداشت و بررسی دماهای مناسب انبارمانی ضروری است.

در ایران عرضه محصول بریده شده و آماده مصرف چندان رایج نیست لذا گسترش این نوع عرضه محصول حداقل به‌منظور صادرات، می‌تواند منجر به افزایش ارزش افزوده محصول شود. با وجود ارقام فراوان انار در ایران، هنوز اطلاعات کافی در خصوص تاثیر نیتریک اکسید و دما بر خصوصیات کیفی و ماندگاری آریل انار رقم ملس که یکی از ارقام مهم صادراتی انار کشور می‌باشد ارائه نشده است. بنابراین با توجه به تاثیر مثبت تیمار نیتریک اکسید در کاهش سرمازدگی، حفظ کیفیت و به‌تعویق انداختن پیری محصول، اثر این تیمار در غلظت‌های مختلف و دمای متفاوت انبار روی خصوصیات کیفی آریل انار رقم ملس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی اثرات تیمار مواد نگهدارنده و دما بر ویژگی‌های کمی و کیفی آریل انار رقم ملس در مرحله پس از برداشت، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی با دو فاکتور نیتریک اکسید در سه سطح (عدم استفاده یا شاهد (A1)، پنج میکرومولار نیتریک اکسید (A2)، 10 میکرومولار نیتریک اکسید (A3) و دمای نگهداری در سه سطح (B1، B2 وB3 به‌ترتیب 2، 4 و 8 درجه سانتی‌گراد) با سه تکرار انجام شد (جدول 1).

جدول 1- تیمارهای نیتریک اکسید و درجه حرارت مورد استفاده روی صفات مورد بررسی در آریل انار

شماره تیمار	نام تیمار	علامت اختصاری
A1B1	شاهد در دمای 2	LT1
A1B2	شاهد در دمای 4	LT2
A1B3	شاهد در دمای 8	LT3
A2B1	نیتریک اکسید 5 میکرومولار در دمای 2	Ni1T1
A2B2	نیتریک اکسید 5 میکرومولار در دمای 4	Ni1T2
A2B3	نیتریک اکسید 5 میکرومولار در دمای 8	Ni1T3
A3B1	نیتریک اکسید 10 میکرومولار در دمای 2	Ni2T1
A3B2	نیتریک اکسید 10 میکرومولار در دمای 4	Ni2T2
A3B3	نیتریک اکسید 10 میکرومولار در دمای8	Ni2T3

میوه‌های انار از یک باغ تجاری واقع در شهرستان شهرضا برداشت شده و به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان منتقل شدند و سپس آریل‌ها از پوست جداسازی شدند. پس از تهیه غلظت‌های مختلف نیتریک اکسید، 150 گرم آریل درمدت 15 ثانیه در هر یک از تیمار غوطه‌ور و پس از آن به مدت 20 دقیقه در دمای اتاق خشک و سپس در ظروف پلی‌اتیلنی با حداقل نفوذ هوا بسته‌بندی شدند. آریل‌های بسته‌بندی شده به‌مدت 21 روز در دماهای مختلف نگهداری مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی شاخص‌های کمی و کیفی میوه به‌فاصله زمانی هفت روز انجام شد.

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص درصد کاهش وزن، ابتدا آریل‌های بسته‌بندی شده را در ابتدا و انتهای مدت انبارمانی با استفاده از ترازوی دیجیتال (Mettler Toledo ،ML3002.E، سوئیس) با دقت 0/01 گرم، توزین و با استفاده از رابطه زیر درصد کاهش وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد (Zhang *et al*.,2002).

(1) وزن اولیه /100 × (وزن ثانویه - وزن اولیه) =درصد کاهش

برای تعیین مواد جامد محلول چند قطره آب نمونه صاف شده با دستگاه رفراکتومتر دیجیتالی (پال 3 آتاگو، ژاپن) قرائت شد (Ayala-Zavala *et al*., 2007). جهت تعیین اسید قابل تیتر، 5 میلی‌لیتر آب میوه با محلول 0/1 نرمال NaOH تا رسیدن به pH =8/1 تیتر نموده و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید سیتریک در 100 گرم وزن تازه بیان گردید (Ayala-Zavala *et al*., 2007). شاخص طعم با نسبت درصد مواد جامد محلول به اسید قابل تیتر به‌دست آمد. برای سنجش پارامترهای رنگی شامل میزان L^* (روشنایی)، a^* (قرمزی) و b^* (زردی) از دستگاه رنگ سنج (CR-400 مینولتا، ژاپن) استفاده شد (Aguayo *et al*., 2006). اندازه‌گیری اسید آسکوربیک با استفاده از روش تیترسنجی با محلول ایندوفنل انجام شد، به‌طوری که 10 میلی‌لیتر از عصاره صاف شده نمونه را با سدیم 2 و 6 دی‌کلروفنل ایندوفنل تیتر نموده و حجم محلول ایندوفنل مصرف شده یادداشت و در نهایت مقدار اسید آسکوربیک نمونه برحسب میلی‌گرم اسیدآسکوربیک در 100 گرم وزن عصاره بیان گردید (Cioroi, 2007). آنتوسیانین کل با استفاده از روش اختلاف pH بین دو سیستم بافری اندازه‌گیری شد (Muanda *et al*.,2011). دو سیستم بافر، پتاسیم کلرید (0/25 مولار) با pH= 1 و استات سدیم (0/4 مولار) با pH= 4/5 استفاده شد. به‌طور خلاصه در این روش، 400 میکرولیتر از محلول عصاره با 3/6 میلی‌لیتر از هر یک از بافرها به‌طور جداگانه مخلوط شد و جذب آن‌ها با دستگاه طیف‌سنج نوری (CE2501 Bio-Quest UV/Visible CECIL، انگلیس) در دو طول موج 433 و 733 نانومتر خوانده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم در لیتر معادل سیانیدین-3-گلیکوزید در عصاره بر اساس فرمول زیر بیان گردید. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، به‌جای عصاره آب میوه آب مقطر جایگزین شد.

(2) $\Delta A= (A510- A700)\ pH_1\ (A510 - A700)\ pH_{4/5}$

(3) آنتوسیانین کل = $MA \times 3333/ df \times MW \times \Delta A$

برای استخراج فنل یک گرم آریل با 5 میلی‌لیتر متانول اسیدی سرد هموژن گردید و محلول حاصل به‌مدت 10 دقیقه با سرعت 12000 دور در دقیقه و دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جمع‌آوری و مقدار فنل با استفاده از معرف سیوکالچئو و براساس منحنی استاندارد حاصل از اسید گالیک محاسبه شد. میزان جذب نمونه در طول موج 750 نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (کری 333، واریان، آمریکا) اندازه‌گیری شده و میزان ترکیبات فنلی تیمارها به‌صورت میلی‌گرم اسید گالیک در 100 گرم بافت میوه بیان گردید. به‌جای عصاره متانولی، از متانول خالص برای شاهد استفاده شد (Shui and leong ., 2002).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره با روش DPPH و ارزیابی فعالیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد، اندازه‌گیری شد. برای این منظور یک گرم از بافت میوه به‌وسیله نیتروژن مایع در داخل هاون چینی پودر و سپس توسط 10 میلی‌لیتر متانول 80 درصد عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل در 10000 دور سانتریفوژ شده و سپس 75 میکرولیتر عصاره متانولی به 2925 میکرولیتر DPPH 0/1 میلی‌مولار (2/4 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر متانول 85 درصد) اضافه شد. پس از30 دقیقه میزان جذب توسط دستگاه طیف‌سنج نوری با طول موج 517 نانومتر قرائت گردید. لازم به ذکر است که در نمونه بلانک، به‌جای عصاره متانولی، متانول جایگزین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق رابطه زیر محاسبه شد (Li *et al*., 2014).

(4) فعالیت آنتی‌اکسیدان (٪) = $(At_0-At_{30}) \times 100/At_0$

که در آن At_0 جذب نمونه در زمان صفر و At_{30} جذب نمونه پس از گذشت 13 دقیقه است.

نشت الکترولیت

برای اندازه‌گیری میزان نشت یونی 10 تا آریل از هر تکرار وزن شدند سپس دوبار با آب مقطر شسته شدند و سپس آن‌ها در 100میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه به‌مدت یک ساعت قرار گرفتند و نشت یونی اولیه این محلول توسط دستگاه هدایت‌سنج (Jenway ،450، انگلستان) اندازه‌گیری گردید. سپس هر یک از ظروف حاوی بافت میوه در دمای اتاق روی دستگاه شیکر قرار گرفتند و پس از 10 ثانیه نشت یونی مجددا اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (He *et al*., 2008).

(4) نشت یونی = $\left(\frac{EC\,2-EC1}{FW\ of\ 10\ arils}\right) \times 100$

برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید 0/2گرم از بافت آریل در هاون چینی با 3 میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) 1%، ساییده شد. عصاره حاصل به‌مدت 10 دقیقه در 10000 دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. در مرحله بعد یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ با 4 میلی‌لیتر محلول مالون دی‌آلدهید که حاوی TCA 20% (وزنی/حجمی) و TBA (تیوباربیتوریک اسید) 5% (وزنی/ حجمی) است، مخلوط شدند. مخلوط حاصل به‌مدت 30 ثانیه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد در حمام بن‌ماری حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شد و به‌مدت 10 دقیقه مجددا سانتریفیوژ گردید. شدت جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج 532 نانومتر خوانده شد. جذب رنگیزه‌های غیراختصاصی در 600 نانومتر تعیین و از مقدار حاصل کسر گردید. مقدار مالون دی آلدهید با توجه به ضریب

خاموشی معادل $155\ nML^{-1}m^{-1}$ محاسبه و به‌صورت نانومول بر گرم وزن‌تر بیان شد (He et al., 2008).

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از پیروگالل به‌عنوان پیش‌ماده آنزیم استفاده گردید. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات 100 میلی‌مولار (pH=7)، 200 میکرولیتر پیروگالل 0/02 مولار و 100 میکرولیتر عصاره آنزیمی (بافت میوه هموژنیزه شده با بافر فسفات روی نیتروژن مایع) بود. فعالیت آنزیم با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری و با جذب در طول موج 420 نانومتر، پس از پنج دقیقه با اضافه کردن پیروگالل به مخلوط واکنش تعیین شد (Pizzocaro *et al*., 1993). برای سنجش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (Chance and Maehly, 1995)، از بافر فسفات (50 میلی‌مولار و pH=7)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2، 1%) و گایکول استفاده شد. فعالیت آنزیمی با افزودن آب اکسیژنه و عصاره آنزیمی به‌مخلوط واکنش آغاز شد. پس از مدت 3 دقیقه (هر30 ثانیه) جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری در طول موج 470 نانومتر قرائت شد.

ارزیابی حسی

به‌منظور ارزیابی صفات طعم، بافت و ظاهر میوه، از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده شد به این صورت که نمره 1 برای آریل بسیار بد، نمره 3 برای آریل‌های بد، نمره 5 برای آریل دارای کیفیت متوسط، نمره 7 برای آریل‌های خوب و نمره 9 برای آریل‌های خیلی خوب در نظر گرفته شد. همچنین نظر خواهی از حداقل پنج پانلیست زن آموزش دیده صورت گرفت (Emamifar, 2014).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

واکاوی آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون حداقل معنی‌دار LSD صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اثر نیتریک اکسید، درجه حرارت و زمان روی صفات مورد بررسی در آریل انار رقم ملس در جدول 2 آورده شده است.

نتایج این بررسی نشان داد که اثرات ساده تیمارهای استفاده شده بر اکثر صفات کمی و کیفی مورد بررسی معنی‌داراست ($P\leq 0.01$) اما اثرات متقابل ماده نگهدارنده و دما روی اکثر صفات به غیر از شاخص‌های میزان آنتوسیانین کل، آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، آنزیم پراکسیداز، درصد رطوبت و مالون دی‌آلدهید اثر معنی‌داری نشان داد ($P\leq 0.05$).

جدول2- تاثیر نیتریک اکسید و درجه حرارت روی صفات مورد بررسی آریل انار رقم ملس طی مدت انبارمانی

صفات	نیتریک اکسید (N)	N × دما	زمان (D)	دما (T)	خطا	N ×زمان× دما	دما×زمان	N × زمان
کاهش وزن	4/03 **	0/11 **	36/78**	0/39 **	0/001	0/04**	0/11**	0/71**
مواد جامد محلول	0/17**	^{ns}0/002	10/04**	0/008**	0/001	^{ns}0/002	0/003*	0/04**
اسید قابل تیتر	0/03**	0/002**	0/05**	0/01**	0/0002	0/0002^{ns}	0/001**	0/003**
شاخص طعم	3/36**	0/120**	16/76**	0/70**	0/016	0/02^{ns}	0/09**	0/42**
اسید آسکوربیک	21/59**	0/27**	55/15**	4/114**	0/07	0/11^{ns}	0/82**	2/80**
قرمزی رنگ	1/32^{ns}	1/52^{ns}	23/79**	0/97^{ns}	0/85	1/81*	1/09^{ns}	1/28^{ns}
درخشندگی رنگ	2/10**	0/48^{ns}	12/99**	1/47*	0/49	0/20^{ns}	0/64^{ns}	0/61^{ns}
زردی رنگ	0/88*	0/19^{ns}	23/47**	0/71*	0/23	0/28^{ns}	0/52*	0/28^{ns}
فنل کل	13505/63**	122/27**	123265/46**	465/16**	6/28	27/77**	73/75**	2092/19**
آنتوسیانین	73/70**	1/13 ^{ns}	1798/81**	32/33**	0/50	^{ns}0/82	4/93*	10/22**
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	163/09**	5/41*	3123/92**	49/48 **	1/88	4/56**	6/97**	25/90**
نشت یونی	321/82**	9/31**	856/32**	27/396**	0/87	5/85**	11/95**	79/67**
مالون دی آلدهید	198/38**	1/17 ^{ns}	560/85**	42/32**	0/76	1/94**	5/79**	37/35**
پلی فنل اکسیداز	/0009**	0/000^{ns}	/0028**	0/0003^{ns}	0/13	0/000^{ns}	0/00^{ns}	0/0001^{ns}
پراکسیداز	2/13**	0/70 ^{ns}	21/16**	0/30^{ns}	0/38	0/21 ^{ns}	0/08 ^{ns}	0/97*
ارزیابی حسی	11/57**	0/22**	12/98**	1/30**	0/01	0/18**	0/27**	2/26**

*، ** و ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح 5% ، 1% و عدم اختلاف معنی‌دار

جدول3- مقایسه میانگین اثر متقابل نیتریک اکسید و درجه حرارت روی صفات کمی و کیفی آریل طی انبارمانی

تیمار	زمان انبارمانی	کاهش وزن (٪)	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر صد گرم وزن تر)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (درصد بازدارندگی)	مالون دی آلدهید (μm بر گرم وزن تر)	نشت الکترولیت (μS/100گرم وزن)
LT1	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/02±0/65o
	7	1/78±0/001o	612/2741±1/62Ij	65/32±0/6fg	37/59±0/38fg	38/08±0/46ijk
	14	2/7±0/002e	578/0889±3/13l	60/69±2/375hi	40/88±0/44c	49/76±0/034c
	21	3/6±0/005a	r3/05 495/163±	m48/22± 0/36	a48/87± 0/49	ab52/40± 0/37
LT2	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/017±0/65p
	7	1/75±0/001p	628/8667±1/56f	65/59±1/63efg	36/33±0/22ghi	37/03±0/34Klmn
	14	2/62±0/003f	586/0889±2/45k	61/49±2/535h	39/59±0/72ijk	47/68±0/34d
	21	3/48±0/003b	500/0889±4/62q	lm49/40± 1/29	a47/68± 0/39	a55/00± 0/51
LT3	0	0z	700/6±0/005a	80/25±0/07a	30/12±0/07o	33/02±0/65p
	7	1/69±0/01q	625/7185±1/06Fgh	65/56±1/18efg	35/63±0/26ijk	37/75±0/034ijkl
	14	2/52±0/002g	583/7556±0/93k	64/67±6/55g	37/27±0/23fgh	44/03±0/82F
	21	3/33±0/003c	495/6444±0/5r	l51/23± 0/85	b43/63± 0/28	e45/91± 0/33
NI1T1	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/02±0/65p
	7	1/45±0/001u	647/3481±1/07e	68/27±0/25cd	33/78±0/47lm	34/46±0/27op
	14	2/06±0/005m	618/1259±0/08j	66/29±0/18defg	34/87±0/53jkl	41/11±0/97g
	21	2/97±0/006d	551/9407±1/07p	k54/21± 1/26	40/07±0/11cd	45/69±0/83Ef
NiT2	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/02±0/65p
	7	1/45±0/001x	652/0889±1/03d	67/15±1 /08cdef	34/23±0/37klm	36/39±0/57lmn
	14	2/06±0/005s	622/0148±1/99Hij	67/04±0/20cdef	36/26±0/35ghij	39/088±0/59Hij
	21	2/97±0/006k	564/0889±1/35n	k55/23± 0/98	ef38/06± 0/37	cd48/53± 0/42
Ni1T3	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/02±0/65p
	7	1/28±0/004u	660/6815±1/06d	67/37±0/33cdef	31/82±0/38n	35/21±0/04no
	14	1/61±0/008m	627/7926±0/78Fg	68/20±1/86cd	33/98±0/19lm	37/14±0/69klm
	21	2/14±0/007d	565/2±1/44mn	j58/38± 3/45	ij35/70± 0/23	ef45/15± 0/19
Ni2T1	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/02±0/65p
	7	1/30±0/003w	650/0148±0/78de	67/37±0/72cdef	33/94±0/15lm	36/13±0/47mn
	14	1/64±0/007r	623/9407±0/78ghi	66/86±0/84cdefg	35/92±0/50hij	37/60±0/29jklm
	21	2/23±0/01j	554/311±1/03op	k54/57± 0/62	de39/16± 0/43	gh40/40± 0/49
Ni2T2	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/02±0/65o
	7	1/32±0/004v	650/3111±0/51de	67/59±0/31cde	33/42±0/27m	34/60±0/59o
	14	2/13±0/007k	620/3852±0/8ij	65/7±0/73efg	35/58±0/35ijk	37/35±0/44klm
	21	2/39±0/005i	558/163±1/29o	k48/22± 0/23	ef38/32± 0/56	hi39/26± 0/59
Ni2T3	0	0z	700/6±0/00a	80/25±0/07a	30/12±0/75o	33/02±0/65p
	7	1/26±0/004y	669/8667±1/026b	74/24±0/82b	30/57±0/56no	35/12±0/13no
	14	1/53±0/007t	629/2741±1/023F	68/66±0/84c	33/91±0/20lm	36/91±0/14klm
	21	2/09±0/007l	568/5333±1/3m	59/20± 1/48ij	37/76± 0/28ef	39/67± 0/37gh

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بین تیمارها است.

اثر برهمکنش بین تیمارهای استفاده شده و زمان نیز بر شاخص-های کاهش وزن، پلی‌فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مالون دی‌آلدهید و نشت یونی ($P\leq 0.01$) تفاوت معنی‌داری نشان داد

با توجه به جدول 2 نتایج مربوط به هریک از ویژگی‌های موردارزیابی، به تفکیک در زیر بحث می‌شود

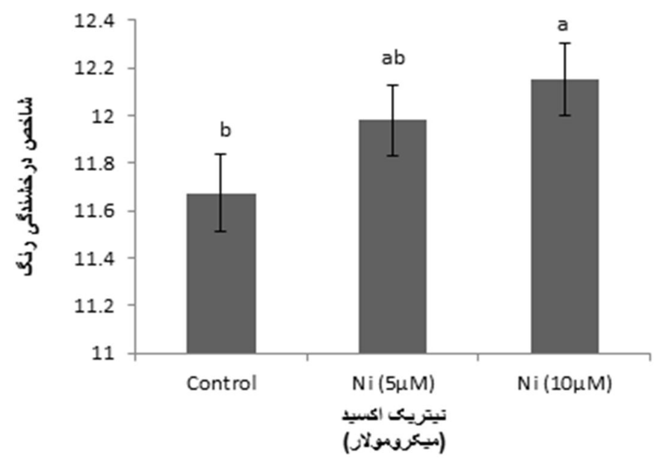
کاهش وزن میوه

تاثیر هر دو تیمار نیتریک اکسید و دما و نیز اثرات متقابل آن‌ها با زمان بر میزان کاهش وزن آریل‌ها در سطح احتمال 1% معنی‌دار بود (جدول 2). همان‌طور که جدول 3 نشان می‌دهد با افزایش زمان نگهداری، میزان کاهش وزن آریل‌ها افزایش یافت. براساس نتایج مقایسه میانگین، بیشترین درصد کاهش وزن (3/6%) مربوط به تیمار LT1 و کمترین آن (2/09%) در تیمار Ni2T3 مشاهده شد. البته بین تیمارهای Ni1T2 و Ni1T4 در روز هفتم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با بررسی نتایج جدول 3 مشخص گردید که تیمارهای نیتریک اکسید به‌طور معنی‌داری توانستند میزان کاهش وزن آریل‌های انار را در طول مدت نگهداری نسبت به تیمارهای شاهد کاهش دهند.

با افزایش درجه حرارت محیط، سرعت واکنش‌ها از جمله تنفس افزایش یافته و در نتیجه منجر به افزایش سوخت و ساز مواد ذخیره‌ای سلول و کاهش وزن بیشتر شود. نگهداری میوه‌ها در انبار سرد هرچند که باعث کاهش متابولیسم سلول‌های آن‌ها می‌گردند اما در میوه‌های حساس به سرمازدگی، باعث آسیب به غشاء سلول و افزایش نشت یون‌ها می‌شود. در میوه‌های آسیب دیده در اثر تنش سرما، علاوه‌بر افزایش نشت یون‌ها، درصد اتلاف آب سلول‌ها نیز گزارش شده است (Abe *et al.*, 1978). در مطالعه حاضر با افزایش طول مدت نگهداری، میزان کاهش وزن آریل انار افزایش یافت که می‌تواند ناشی از تبخیر آب، آسیب غشاء در اثر سرمازدگی و افزایش پیری، باشد. مطالعات اخیر حاکی از آن است که نیتروژن مونوکسید یا نیتریک اکسید به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد فعال زیستی یا مولکول هشداردهنده در گیاهان عمل می‌کند (Lai *et al.*,2011).

شاخص‌های رنگ

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص L^* نتایج نشان داد، تیمار نیتریک اکسید اثر چشمگیری در حفظ شاخص روشنایی رنگ آریل انار دارد. بین غلظت 5 و 10 میکرومولار نیتریک اکسید از نظر شاخص روشنایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 1).



شکل۱- تاثیر نیتریک اکسید بر شاخص درخشندگی رنگ آریل‌های رقم ملس در ۲۱ روز انبارمانی

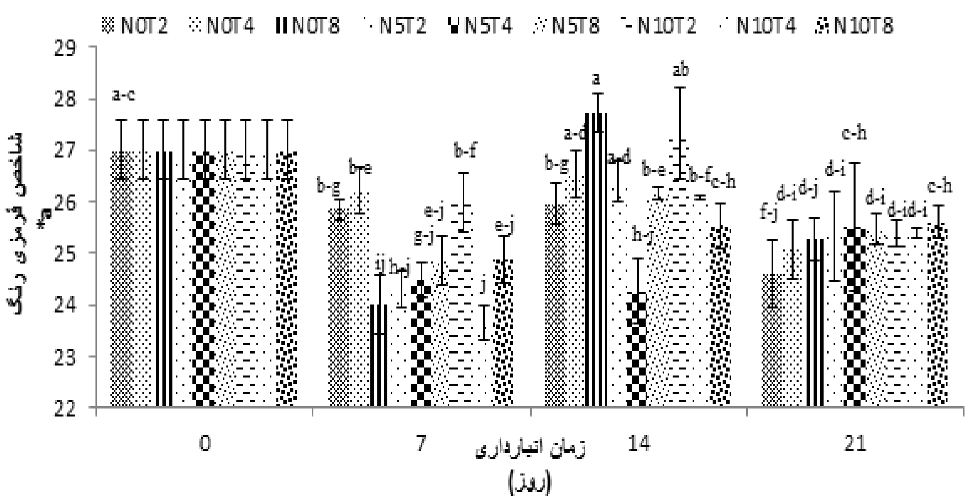
Control: شاهد، Ni (5µM): نیتریک اکسید در غلظت 5 میکرومولار، Ni (10µM): نیتریک اکسید در غلظت 10 میکرومولار

نتایج حاصل از اندازه¬گیری شاخص a^* درطول انبارمانی نشان داد، که با افزایش زمان نگهداری میزان شاخص قرمزی رنگ کاهش یافت (شکل 2). روند این تغییرات از ابتدا تا روز 7 انبارمانی در تمام تیمارها کاهش و سپس از روز هفتم تا چهاردهم افزایش و در ادامه دوباره روند کاهشی را در پیش گرفت. این روند کاهشی در تیمار N10T4 در روز 7 بیشتر از سایر تیمارها بود، در حالی‌که این کاهش در تیمار N0T2 کمتر ازسایر تیمارها بود. تیمارهای N10T8 و N5T4 با مقادیر 25/60 و 25/46 بیشترین میزان قرمزی رنگ را در پایان انبارمانی نشان دادند.

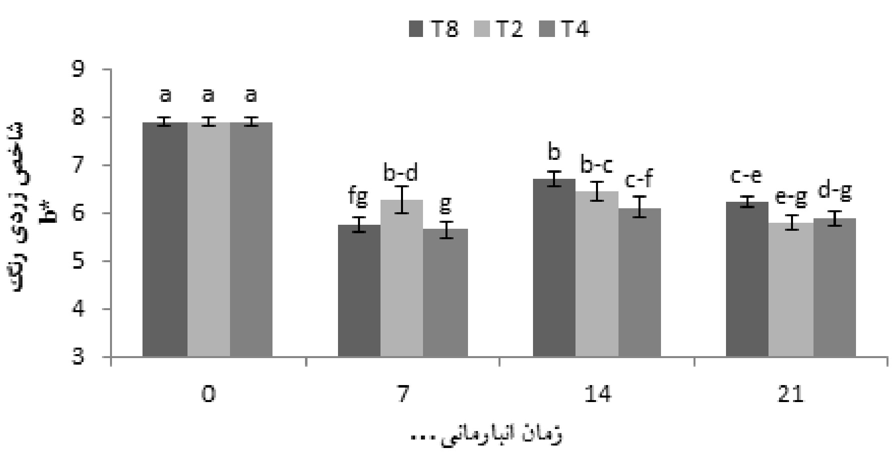
نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، در تمامی تیمارها با گذشت زمان مقدار زردی رنگ آریل انار کاهش یافته است اما این کاهش در تیمار T8 نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. میزان این

کاهش در تیمار T2، T4 وT8 در طول انبارمانی به‌ترتیب 26/71%، 25/44% و 21/27% بود. نتایج نشان داد، دمای 8 درجه سانتی‌گراد اثر چشمگیری در جلوگیری از کاهش این شاخص در طول مدت انبارمانی دارد (شکل 3).

رنگ میوه از مهم‌ترین شاخص‌های میوه، از نظر پذیرش مصرف‌کننده است. رنگ مناسب منجر به ایجاد ظاهر مطلوب در میوه می‌شود. تغییرات شیمیایی هنگام انبارمانی میوه معمولاً باعث کاهش مقدار رنگیزه‌ها در میوه می‌شود (Varasteh *et al.*, 2012). نتایج این تحقیق نشان داد، نیتریک اکسید سبب افزایش مولفه a^* و شاخص درخشندگی رنگ در مقایسه با شاهد شده است. مطالعات قبلی نیز نشان دادند که میوه‌های گوجه‌فرنگی که در دماهای بالا انبار شده‌اند نسبت به میوه‌های که در دمای پایین انبار شده اند، ویژگی‌های رنگی میوه را بیشتر حفظ می‌کنند (Tadesse *et al.*, 2015). رنگ بهتر آریل‌ها ممکن است به اثر بخشی نیتریک اکسید در برابر صدمات سرمازگی و یا بهبود نگهداری آنتوسیانین نسبت داده شود. افزایش شاخص قرمزی رنگ در بذر پوشینه‌های انار رقم ملس تا 7 روز پس از انبارمانی می‌تواند به‌واسطهٔ ادامهٔ ساخت آنتوسیانین در آریل‌ها باشد. نتایج همسانی نیز در انار رقم شیشه کپ تیمارشده با نیتریک اکسید گزارش شده است (Holcroft *et al.* 1998). کاهش قرمزی رنگ در پایان دورهٔ انبارمانی در انار پوشش داده شده با پوشش خوراکی کیتوزان می‌تواند نتیجهٔ آسیب آنتوسیانین‌ها باشد (Varasteh *et al.*, 2012).



شکل 2- تیمارهای نیتریک اکسید و دما بر شاخص قرمزی رنگ (a*) آریل‌های رقم ملس در 21 روز انبارمانی



شکل 3- تاثیر دما بر شاخص زردی رنگ (b*) آریل‌های رقم ملس در 21 روز انبارمانی

پلی‌فنل کل

میزان فنل کل، در روزهای 7، 14 و 21 آزمایش، به‌ترتیب در میوه‌های تیمار شده با نیتریک اکسید با غلظت (10 میکرومولار) در دمای 8 درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب 669/87 ، 27/ 629 و 568/53 (میلی‌گرم گالیک اسید/100 گرم وزن تازه) مشاهده بود. محتوای ترکیبات فنلی در تمام تیمارها در پایان انبارمانی کاهش یافت که این کاهش در نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری ($P<0.01$) بسیار بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با نیتریک اکسید بود. در روز پایانی، نمونه شاهد نسبت به بهترین تیمار، یعنی نیتریک اکسید با غلظت (10 میکرومولار)، 87/09% کاهش نشان داد. نیتریک اکسید از فعالیت پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز جلوگیری کرده و سطوح ترکیبات فنلی را در طول انبارمانی نسبتاً بالا نگه می‌دارد (Duan *et al*., 2007). همچنین گزارش شده که نیتریک اکسید از افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز جلوگیری کرده و می‌تواند با فلزات انتقالی مانند آهن، مس و روی و آنزیم‌های دارای گروه تیول اثر متقابل داشته باشد (Bogdan, 2001). مطالعات نشان داد، تیمار میوه‌های عناب با 10 و 20 میلی‌لیتر در لیتر محلول نیتریک اکسید مانع افزایش رنگ قرمز، کاهش محتوای آنتوسیانین کل، کاهش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز و افزایش محتوای فنل کل در طول انبارمانی می‌شود (Zhu *et al*., 2009). گونه‌های فعال اکسید نیتروژن به‌وسیله واکنش دادن با ترکیبات فنلی، می‌توانند پیش ماده پلی‌فنل اکسیداز را کاهش دهند.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر نیتریک اکساید، دما و زمان بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار شد (جدول 2). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آریل‌های انار در تمام نمونه‌های تیمار شده و نشده با گذشت زمان کاهش یافت. تیمارهای نیتریک اکسید به‌آهستگی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آریل‌های انار را در طول انبار کاهش دادند. کمترین میزان کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روز بیست و یکم نسبت به زمان برداشت در تیمار Ni2T3 (26/23%) و بیشترین آن در تیمار LT1 (39/91%) و LT2 (38/44%) مشاهده شد (جدول 3). همچنین آریل‌های نگهداری شده در دمای 8 درجه سانتی‌گراد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آریل‌های نگهداری شده در دمای 2 و 4 درجه سانتی‌گراد داشتند (جدول 3). این درحالی بود که پس از 21 روز انبارمانی، از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی‌داری بین آریل‌های شاهد در دمای 2 و 4 درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد. دمای پایین باعث تولید شدن رادیکال‌های آزاد و افزایش تنفس سلولی و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آریل انار شده است، اما نیتریک اکسید بر فعالیت‌های میتوکندری در سلول‌های گیاهی تأثیر می‌گذارد و تنفس سلولی را به‌دلیل اثر مهاری بر روی سیتوکروم، کاهش می‌دهد (Zaharah and Singh., 2011). در طی انبارمانی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه در دمای 8 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری بالاتر از میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دمای 2 و 4 درجه سانتی‌گراد بود. در حالت کلی نگهداری انار در دمای 2 و 4 درجه سانتی‌گراد باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب به غشای سلولی خواهد شد. اما تیمار نیتریک اکسید با حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش خسارت سرمازدگی می‌گردد. یافته‌های حاصل از این پژوهش با مطالعات دیگر محققان مطابقت دارد. نیتریک اکسید در میوه انبه و موز باعث حفظ سفتی بافت، تنفس پایین‌تر و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های تیمار شده نسبت به شاهد شده است (Zheng *et al*., 2006). در میوه توت‌فرنگی تیمار نیتریک اکسید به‌دلیل افزایش یکپارچگی غشاء مانع تخریب آنتوسیانین و کاهش اکسیداسیون می‌شود. به‌نظر می‌رسد، نیتریک اکسید در کیوی (Saadatian *et al*., 2012) و لیچی (Barman et al., 2014) باعث حفظ سفتی بافت، تنفس پایین‌تر و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه تیمار شده نسبت به شاهد شده است. ثابت شده است که نیتریک اکسید می‌تواند به‌صورت یک آنتی‌اکسیدان در بافت‌های گیاهی عمل کند (Zheng *et al*., 2006).

نشت یونی و مالون دی‌آلدهید

مقدار نشت یونی و مالون دی‌آلدهید با افزایش مدت نگهداری، در تمام نمونه‌ها افزایش یافت. در طول مدت آزمایش آریل‌های تیمار شده با 10 میکرومولار نیتریک اکسید در دمای 8 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری ($P<0.01$) کمترین میزان مالون دی‌آلدهید را در روزهای 7، 14 و 21 نشان دادند این درحالی‌بود که در روز پایانی، بالاترین میزان مالون دی‌آلدهید با 48/87 میکرومول بر گرم وزن تازه در نمونه شاهد ثبت گردید. همچنین حداکثر و حداقل میزان نشت یونی به‌ترتیب در تیمار شاهد در دمای 4 درجه سانتی‌گراد و آریل‌های تیمار شده با 10 میکرومولار نیتریک اکساید در دمای 4 و 8 درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. همان‌طور که در جدول 3 نشان داده شده است، در اثر تنش سرما در آریل‌های انار، محتوای مالون دی آلدهید به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. در طول مدت زمان نگهداری میوه‌ها و سبزیجات، تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS[1]) آسیب اکسیداتیو لیپیدی را تشدید کرده و یک محصول سمی بنام مالون دی‌آلدهید (MDA[2]) ایجاد می‌کنند که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده می‌باشد (Hodges *et al*., 199). نیتریک اکسید با تاثیر در حفظ سیالیت ساختار غشای پلاسمایی و اندامک داخلی از جمله تونوپلاست در دمای پایین، باعث کنترل نشت یون‌ها و مواد موجود در واکوئل به

1 Reactive oxygen spicies

2 Malondialdehyde

سیتوزول و فضاهای سیتوپلاسمی شده است. پراکسیداسیون چربی‌های غشاء ممکن است اولین اتفاق آشکار در مواجه آسیب سرما به میوه باشد، که این آسیب با افزایش مالون دی‌آلدهید در غشاء پلاسمایی بروز می‌کند (Yang *et al*.,2011). بسیاری از دانشمندان معتقدند، بافت‌های گیاهی که در معرض تنش سرما قرار گرفته‌اند، محتوای مالون دی‌آلدهید ملاک مناسبی برای نشان دادن سلامت غشاء پلاسمایی است (Antunes and Sfakiotakis, 2008)

جدول 4- مقایسه میانگین اثر متقابل نیتریک اکسید و زمان روی صفات کمی و کیفی آریل انار رقم ملس

تیمار	زمان انبارمانی	مواد جامد محلول (درصد)	اسید قابل تیتر	آنتوسیانین (mg/ 100 ml)	اسید آسکوربیک (mg اسید سیتریک در هر 100 g)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (nmol/mg Pr)	شاخص طعم (درصد مواد جامد محلول/اسید قابل تیتر)
Ni0	0	14/28±0/01f	1/4±0/00a	39/45±0/14a	15/23±0/06a	2/14±0/15d	11/70±0/01f
	7	15/38±0/008d	1/31±0/01f	31/14±0/42c	12/7±0/18d	1/90±0/11d	12/61±0/09cd
	14	15/57±0/01b	1/29±0/005g	25/17±0/31e	11/247±0/31e	3/00±0/18c	13/20±0/08b
	21	15/80±0/014a	1/25±0/004h	17/50±0/044g	10/57±0/15f	3/30±0/17bc	14/01±0/13a
Ni1	0	14/28±0/01f	1/4±0/00a	39/45±0/14a	15/23±0/06a	2/14±0/15d	11/70±0/01f
	7	15/31±0/006e	1/36±0/007c	33/84±0/36b	13/97±0/13b	1/99±0/17d	12/32±0/06de
	14	15/37±0/01d	1/34±0/008 d	27/46±0/31d	13/34±0/10c	3/06±0/25bc	12/68±0/07c
	21	15/56±0/031b	1/32±0/0078ef	21/64±0/65f	12/71±0/12d	3/60±0/28b	13/17±0/09b
Ni2	0	14/28±0/01f	1/4±0/00a	39/45±0/14a	15/23±0/06a	2/14±0/15d	11/70±0/01f
	7	15/32±0/01e	1/38±0/013b	34/19±0/28b	14/00±0/2b	2/01±0/22d	12/26±0/07e
	14	15/43±0/016c	1/36±0/011c	27/97±0/44d	13/17±0/23c	3/41±0/23bc	12/52±0/06c-e
	21	15/55±0/009b	1/31±0/010de	22/20±0/74f	12/56±0/24d	4/65±0/25a	12/76±0/07c

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بین تیمارها است.

مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون، شاخص طعم و اسید آسکوربیک

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اثرات سه‌گانه تیمارهای نیتریک اکسید، درجه حرارت و زمان (نیتریک اکسید× درجه حرارت× زمان) و همچنین اثرات دو گانه درجه حرارت و زمان (درجه حرارت× زمان) اثر معنی‌داری بر پارامتر مواد جامد محلول آریل انار نشان نداد. در حالی‌که اثرات دوگانه تیمار نیتریک اکسید و زمان (نیتریک اکسید× زمان) بر مواد جامد محلول معنی‌دار بودند (جدول 2). این آزمون نشان داد که مقادیر این کمیت بین 15/8-14/28 درصد می‌باشد. طبق نتایج، نمونه‌های تیمار شده با نیتریک اکسید مواد جامد محلول کمتری نسبت به شاهد داشتند. بیشترین میزان مواد جامد محلول در تیمار شاهد و کمترین آن در آریل‌های تیمار شده با نیتریک اکسید مشاهده گردید. مطابق جدول 3، در بررسی تغییرات مواد جامد محلول تفاوت معنی‌داری بین غلظت 5 و 10 میکرومولار نیتریک اکسید در روز 7 و 21 مشاهده نشد. با توجه به جدول 3 میزان اسید قابل تیتر نیز در دوره انبارمانی به‌تدریج کاهش یافت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد، مقدار اسید قابل تیتر در تیمارهای LT1 به‌طور معنی‌داری کمتر از مقدار آن در نمونه‌های تیمار شده بود. اسیدهای آلی به هنگام رسیدن میوه به‌دلیل مصرف شدن در تنفس و تبدیل به قندها کاهش می‌یابند و کاهش آن‌ها رابطه مستقیم با فعالیت‌های متابولیکی دارد (Rahemi, 2006). مطالعات نشان داده است که عواملی که باعث کاهش تنفس و تولید اتیلن می‌شوند به‌واسطه کاهش مصرف قندها، از کاهش اسیدهای آلی و افزایش مواد جامد محلول جلوگیری می‌کنند (Li *et al*.,2014). کمتر بودن میزان مواد جامد محلول در تیمارهای نیتریک اکسید بیانگر این است که تیمار ذکر شده از هیدرولیز قندها در میوه جلوگیری می‌کند (Wang *et al*., 2013). در این آزمایش کاربرد نیتریک اکسید تاثیر معنی‌داری بر میزان مواد جامد محلول داشت در میوه‌های شاهد، به‌دلایل پیشرفت فرآیند پیری و حل شدن پلی‌ساکاریدهای دیواره و غشاء سلولی، دیواره‌های سلولی هضم و مواد جامد محلول افزایش یافته است، درحالی‌که تیمار با نیتریک اکسید باعث کاهش فعالیت‌های متابولیکی سلول و همچنین حفظ غشاء و دیواره سلولی می‌گردد، که نتیجه آن جلوگیری از افزایش غیرعادی مواد جامد محلول می‌باشد. نتایج به‌دست آمده نشان داد، نیتریک اکسید باعث کاهش مقادیر شاخص طعم نمونه‌های تیمارشده در مقایسه با نمونه‌های شاهد شد

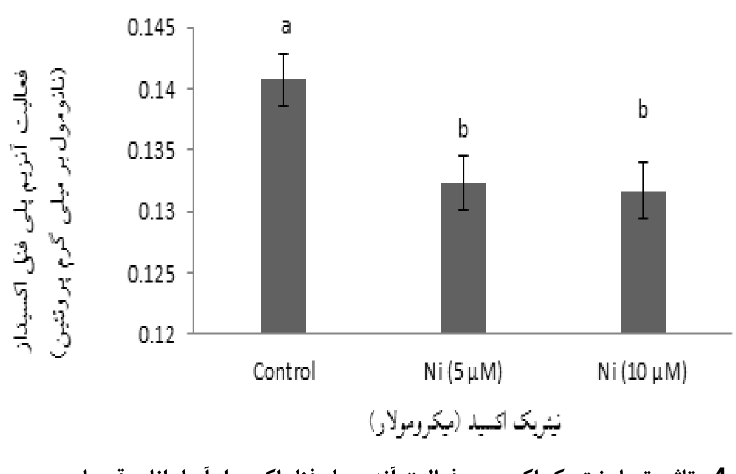
(جدول 3). به‌طوری‌که حداکثر و حداقل میزان شاخص طعم به‌ترتیب در تیمار N0 و N10 مشاهده شد. در روز 21 انبارمانی، اختلاف معنی‌داری بین تیمار N10 و N5 مشاهده نگردید. نتایج بررسی داده‌ها نشان داد که غلظت اسید آسکوربیک در تیمار نیتریک اکسید، روند کاهشی را به‌طور یکنواختی در پیش گرفته و از میزان حدود 15/23 میلی‌گرم در لیتر به 12/56 میلی‌گرم در لیتر رسیده است ولی در تیمار شاهد غلظت اسیدآسکوربیک تا روز هفتم افت شدیدی داشته است. براساس نتایج آنالیز آماری، بین نمونه‌های شاهد با دو تیمار دیگر از نظر میزان اسید آسکوربیک اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ولی بین دو غلظت 5 و 10 میکرومول در لیتر نیتریک اکسید اختلاف معنی‌داری دیده نشد (جدول 3). در میوه انبه نیز گزارش شده است که تیمار نیتریک اکسید سبب حفظ میزان اسیدآسکوربیک شده است (Hong *et al.*, 2014). حفظ اسید آسکوربیک بیانگر حفظ کیفیت و ارزش تغذیه‌ای میوه می باشد، میزان خسارت به ویتامین ث با افزایش مدت انبارمانی، بالا رفتن درجه حرارت، کاهش رطوبت نسبی، آسیب‌های فیزیکی و سرمازدگی افزایش می‌یابد (Amal *et al.*, 2010). علت اصلی کاهش اسیدآسکوربیک می‌تواند به‌علت اکسید شدن این فاکتور در محیط باشد. علاوه بر اکسیداسیون، افزایش pH در اثر فعالیت آنزیمی نیز سبب نابودی اسیدآسکوربیک می‌شود. در اثر اکسیداسیون، اسید آسکوربیک به دهیدرو- ال- آسکوربیک اسید و درصورت ادامه واکنش به دی‌کتو- ال- گلوکونیک تبدیل شده که این مسیر غیرقابل برگشت است، در نتیجه افت شدیدی در میزان این ترکیب در زمان انبارمانی آریل انار مشاهده می‌شود (Amal *et al.*, 2010). در آریل‌های انار تیمار شده با نیتریک اکسید به‌دلیل کنترل میزان تنفس به داخل سلول و کنترل فعالیت آنزیمی، میزان کاهش این ویتامین نسبت به شاهد کمتر بود.

آنتوسیانین

با افزایش مدت انبارمانی، مقدار آنتوسیانین در کلیه تیمارها کاهش یافت اما این کاهش در آریل‌های تیمار شده با نیتریک اکسید کمتر بود (جدول 3). بیشترین مقدار آنتوسیانین در روز 21 آزمایش در نمونه‌های تیمار شده با نیتریک اکسید با غلظت 10 میکرومولار با مقادیر 22/20 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر به‌دست آمد. همچنین کمترین مقدار آنتوسیانین (17/5 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر) در روز پایانی مربوط به شاهد بود. مطابق جدول 4، در بررسی تغییرات آنتوسیانین تفاوت معنی‌داری بین غلظت 5 و 10 میکرومولار نیتریک اکساید مشاهده نشد. تولید گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسید هیدروژن در میوه‌های برداشت شده در طی انبارمانی مهم است. از این‌رو توجه زیادی به عاملین حذف این رادیکال‌های آزاد مثل پلی‌آمین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها مثل سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات و گلوتاتیون ردوکتاز که با حذف رادیکال‌های آزاد از آسیب آن‌ها جلوگیری می‌کنند، شده است (Zhu *et al.*, 2008). تغییر در محتوای آنتوسیانین‌ها یکی دیگر از علل قهوه‌ای شدن پریکارپ لیچی است (Zhou *et al.*, 2016). کاهش آنتوسیانین‌ها در نتیجه اکسیداسیون در حضور دیگر ترکیبات فنلی صورت می‌گیرد (Zhang *et al.*, 2002). تیمار نیتریک اکسید اثر مثبت و معنی‌داری بر حفظ آنتوسیانین‌ها دارد که با نتایج ما مطابقت دارد.

آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

کمترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در آریل‌های تیمار شده با نیتریک اکسید با غلظت (10 میکرومولار) و مقدار 0/13 نانومول بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد درحالی‌که بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در آریل‌های شاهد ثبت گردید (شکل 4).



شکل 4- تاثیر تیمار نیتریک اکسید بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز آریل انار رقم ملس

Control: شاهد، Ni (5µM): نیتریک اکسید در غلظت 5 میکرومولار، Ni (10µM): نیتریک اکسید در غلظت 10 میکرومولار

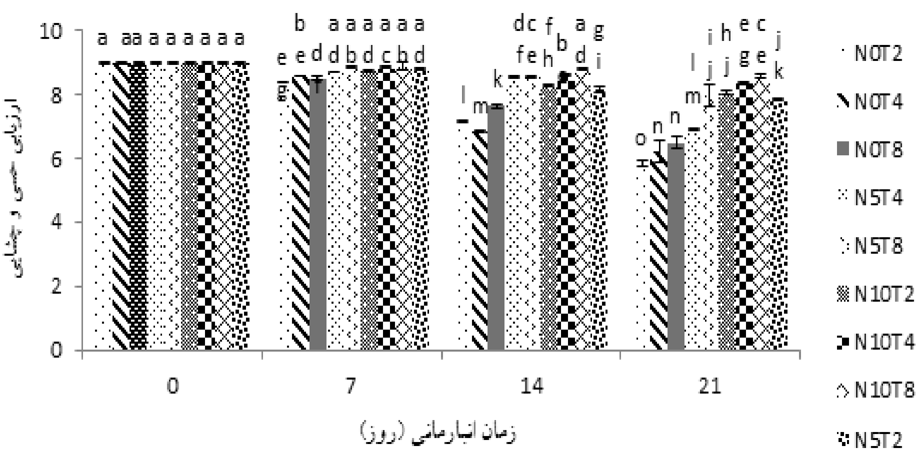
بین غلظت‌های 5 و 10 میکرومولار نیتریک اکسید اختلاف معنی-داری ازنظر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز مشاهده نشد. علت افزایش فعالیت این آنزیم در شاهد می‌تواند تنفس سلولی باشد. در اثر وجود اکسیژن در سلول، آنزیم‌های سلولی از جمله پلی‌فنل اکسیداز شروع به فعالیت کرده و بر سوبسترای فنلی اثر کرده و سبب تبدیل آن به ارتوکینون می‌شوند. گزارشات نشان داد که غلظت 5 میلی‌مولار نیتریک اکساید باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز و فنیل-آلانین آمونیالیاز در میوه شده و از این طریق مانع قهوه‌ای شدن میوه می‌گردد (Mayer *et al*., 1979).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

همان‌طور که در جدول 4 نشان داده شده است در بین تیمارها، بیشترین کاهش فعالیت آنزیم پرکسیداز در روز 21 انبارمانی مربوط به تیمار شاهد با میانگین (3/29 نانومول بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین کاهش مربوط به آریل‌های تیمار شده با 10 میکرومولار نیتریک اکسید با میانگین (4/65 نانومول بر میلی‌گرم پروتئین) بودند. در عین حال بین غلظت 5 میکرومولار نیتریک اکسید و شاهد در روز 21 انبارمانی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 4). همچنین نتایج نشان داد با گذشت زمان، فعالیت آنزیم پراکسیداز آریل‌های انار ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت (جدول 4). فعالیت این آنزیم از ابتدا تا روز 14 انبارمانی کاهش و در ادامه افزایش یافته است. هیچ اختلاف معنی‌داری بین زمان برداشت و روز 7 انبارمانی مشاهده نشد (جدول 4). پراکسیداز یکی از آنزیم‌های کلیدی در گیاهان برای مقابله در برابر پاتوژن‌ها می‌باشد (Zheng *et al*., 2008). در مطالعه حاضر نیتریک اکسید مانع کاهش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد. غلظت پایین نیتریک اکسید باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلم می‌شود، در حالی‌که غلظت‌های بالا حالت بازدارندگی دارد (Zanardo *et al*., 2005). همچنین تیمار میوه‌های موز در دمای پایین با نیتریک اکسید سبب افزایش فعالیت پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در میوه‌های تیمار شده نسبت به میوه‌های شاهد شده است (wang *et al*., 2013).

ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی داده‌ها نشان داد تمامی خواص حسی آریل به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفت. تیمار 10 میکرومولار نیتریک اکسید در دمای 8 درجه سانتی‌گراد بیشترین مطلوبیت را در حفظ این ویژگی‌ها داشت در حالی‌که امتیاز نمونه‌های شاهد کمترین مقدار بود (شکل 5). ویژگی‌های مورد نظر این اعضا تردی بافت، ظاهر مناسب (فاقد پوسیدگی، قارچ و چروکیدگی)، طعم خوب و آبدار بودن آریل‌ها بود. با توجه به اینکه وضعیت ظاهری محصول مهمترین شاخص ارزیابی حسی محصول است (Dushni and Zakaye, 2006) و وجود هرگونه علایم آلودگی و پوسیدگی و نرم شدن میوه باعث کاهش بازارپسندی محصول می‌شود، بنابراین هر عاملی که سرعت پیری را کاهش دهد و از رشد علایم پوسیدگی جلوگیری کند، باعث حفظ وضعیت ظاهری وارزیابی حسی محصول خواهد شد. همچنین بعد از 21 روز انبارمانی، آریل‌های انار تیمارشده با نور ماوراء بنفش و پوشش‌های خوراکی، کیفیت و ظاهر بهتری نسبت به نمونه‌های شاهد داشتند (El-Dien *et al*., 2012). در مطالعه حاضرآریل‌های قرار گرفته در دمای 2 درجه سانتی‌گراد انبار به‌دلیل سرمازدگی، قهوه‌ای شدن بافت، نرم‌شدگی و پوسیدگی، بافت‌های آریل وضعیت ظاهری، بافت و طعم خود را از دست داده و کمترین نمره را از نظر این شاخص نسبت به سایرتیمارها کسب نموده است.



شکل5-تاثیر تیماهای نیتریک اکسید و دما بر ارزیابی حسی آریل‌های انار پس از 21 روز انبارمانی

نتیجه‌گیری

استفاده از تیمارهای دمایی و نیتریک اکسید در نگهداری آریل و کاهش ضایعات و تغییرات موجود در آن نقش مؤثری دارد. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که نیتریک اکسید همانند سایر ترکیبات سازگارکننده به تنش، دارای توانایی القاء مقاومت به سلول‌های گیاهی است و می‌تواند با تاثیر بر غشاء پلاسمایی میزان سرمازدگی و نشت یونی و محتوای مالون دی‌آلدهید را در جهت حفظ سلامت آریل تغییر دهد. بر این اساس اثر متقابل نیتریک اکسید در غلظت 10 میکرومولارو نگهداری در دمای 8 درجه سانتی‌گراد نقش مؤثرتری نسبت به سایر تیمارها در حفظ کیفیت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پلی‌فنل کل وآنتوسیانین، حفظ آنزیم پراکسیداز، به‌تاخیر انداختن کاهش وزن و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نشان داد. به‌طورکلی استفاده از نیتریک اکسید بدون داشتن اثرات نامطلوب بر کیفیت خوراکی و کیفیت داخلی میوه انار، سبب افزایش مقاومت میوه به آسیب‌های ناشی از دمای پایین و حفظ آنتوسیانین آن گردید.

منابع

Abdollahi, R., Asghari M., Esmaiili M. and Abdollahi, A., 2013, Postharvest nitric oxide treatment effectively reduced decays of selva strawberry fruit, *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 6(6): 353-355. (in persian with english abstract)

Abe, K. and Ogata, K., 1978, Chilling injury in eggplant fruits. V. Changes of K ion leakage and contents of phospholipids during storage and effects of phenolic compounds on K ion leakage, phospholipids content and ultrastructural changes of eggplant fruit sections, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 47:111-120.

Amal, s.h., Atress, El-Mogy., Aboul-Anean, M.M., and Alsanius, B.W., 2010, Improving Strawberry Fruit Storability by Edible Coating as a Carrier of Tymol or Calcium Chloride, *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plant*, 2(3): 88-97.

Antunes, M.C. and Sfakiotakis, E. M., 2008, Changes in fatty acid composition and electrolyte leakage of 'Hayward' kiwifruit during storage at different temperatures, *Food chemistry*, 10:891-896.

AOAC, 2008, Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Ayala-Zavala, J.F., Wang, S.Y., Wang, C.Y. and Gonzalez-Aguilar, G.A., 2007, High oxygen treatment increases antioxidant capacity and postharvest life of strawberry fruit, *Food Technology and Biotechnology*, 45:166-173.

Barman, K., Siddiqui, M., Patel, V. and Prasad, M., 2014, Nitric oxide Reduces Pericarp Browning and Preserves Bioactive Antioxidants in Litchi, Sci. *Hortic*, 171: 71-77.

Bogdan, C., 2001, Nitric oxide and the regulation of gene expression, *Trends in Cell Biology*, 112: 66–75.

Chance, B. and Maehly, A.C., 1955, Assay of catalases and peroxidases, *Methods Enzymol*, 11:764-755.

Chaturvedula, V., Sai, P. and Indra, P., 2011, Bioactive Chemical Constituents from Pomegranate (*Punica granatum*) Juice, Seed and Peel-A Review, *International Journal of Research in Chemistr and Environment*, 1:1-18.

Duan, X., Su, X., You, Y., Qu, H., Li, Y. and Jiang, Y., 2007, Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism, *Food Chem*, 104: 571–576

Dushni, M. and Zakaye, M.R., 2008, Physiology and post-harvest technology, First edition. Hamadan University Press, *Hamedan*, 658 pages.

El-Dien Salama, M., Ayaad, H.M., Aboul-Anean, H.E. and Fahmy, H.M., 2012, Effect of edible coating as a carrier of essential oils and ultraviolet light (UV-C) on improving quality of minimally processed Manfalouty pomegranate, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 8(2): 315-324.

Emamifar, A., 2014, Assess the impact of oral aloe vera gel as a coating on microbial characteristics, physicochemical and sensory strawberries fresh during storage, *Journal of Food Science and New Technologies*, 2(6): 15-29.

Ghasemnezhad, M., Sherafati, M. and Payvast, A., 2011,Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times, *Journal Funct Foods*, 3:44–49.

Hakim, K.A, Sarkar, M.A.R., Rahman, S.M., Ibrahim, M. and Ibrahim, M.K., 2013, Effect of post-harvest treatments on physiochemical characters during storage of two banana (*Musa spp*. L.) cv. Sabri and Amritasagar, International *Journal of Biosciences*, 3:168-179.

He, J.Y., Jiang, L.H, Wang, Y.M., joyce, D.C., Ji, Z.L. and Lu, W.J., 2008, Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit, *Physiologia Plantarum*, 132:318–328.

Hodges, D.M., DeLong, J.M., Forney, C.F. and Prange, R.K., 1999, Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds, *Planta*, 207, 04-611.

Holcroft, D. M. and Kader, A. A., 1999, Carbon dioxide-induced changes in colour and anthocyanin synthesis of stored strawberry fruit. *HortScience*, 34, 1244-1248.

Hong, K., Gong, D., Xu, H., Wang, S., JiaZ., Chen, J. and Zhang, L., 2014, Effects of salicylic acid and nitric oxide pretreatment on the expression of genes involved in the ethylene signalling pathway and the quality of postharvest mango fruit, *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 42:205-216.

Lai, T., Li, B., Qin, G. and Tian, S., 2011, Oxidative damage involves in the inhibitory effect of nitric oxide on spore germination of *Penicillium expansum*, *Current Microbiology*, 62:229–234.

Li, X.P., Wu, B., Guo, Q., Wang, J.D., Zhang, P., and Chen, W.X., 2014, Effects of nitric oxide on postharvest quality and soluble sugar content in papaya fruit during ripening, *Journal of Food Processing and Preservation*, 38:591-599.

Lopez-Rubira, V., Conesa, A., Allende, A. and Artes A, 2005, Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C, *Postharvest biology and Technology*. 37: 174–185.

Mirdehghan, S. H. and Rahemi, M., 2002, Reduction of chilling injury in the pomegranate (*Punica granatum*) fruit by intermittent warming, *Iranian Journal of Agricultural Science*, 33(1), 75-80. (In Persian with English abstract)

Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillen, F., Martínez-Romero, D. and Valero, D., 2007., The application of polyamines by pressure or immersion as a tool to maintain functional properties in stored pomegranate arils,, Journal of Agriculture *Food Chemistry*, 55, 755–760.

Muanda, F.N., Soulimani R., Diop, B. and Dicko, A., 2011, Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from Stev reia baudiana Bertoni leaves, *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1865-72.

Pizzocaro F., Torreggiani D., and Gilardi G. 1993. Inhibition of apple polyphenol oxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride, *Journal of Food Processing and Preservation*, 17, 21–30.

Rahemi, M ., 2006, Post-harvest physiology (An introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables), Shiraz University Press.(Iran)

Saadatian, M., Ahmadiyan, S., Akbari, M. and Balouchi., Z., 2012, Effects of Pretreatment with Nitric oxide on Kiwifruit Storage at Low Temperature, Adv. *Environ. Biol*, 1902-1909.

Shi, H.T., Li, R.J., Cai, W., Liu, W., Fu, Z.W., Lu, Y.T., 2012, In vivo role of nitric oxide in plant response to abiotic and biotic stress, *Plant Signaling and Behavior*, 7: 437–439.

Shuhua, Z., Lina, S., Mengchen, L. and Jie, Z., 2008, Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 13:2324-2331.

Shui, G. and Leong, LP. 2002, Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 977(1): 89-96.

Singh, D. and Singh, R.K, 2004, Processed products of pomegranate, Nat Prod Radiance, 3: 66–68.

Singh, Z., Khan, A.S., Zhu, S. and Payne, A.D., 2013, Nitric oxide in the regulation of fruit ripening: challenges and thrusts. *Stewart Postharvest Review*, 9: 1–11.

Varasteh, F., Arzani, K., Barzegar, M. & Zamani, Z., 2012, Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 130: 267-272.

Wang, Y., Luo, Z., Du, R., Liu, Y. and Mao, L., 2013, Effect of nitric oxide on antioxidative response and proline metabolism in banana during cold storage, *Journal of Agriculture Food*, 61: 37.8880-8887.

Yang, A.P., Cao, S.F., Yang, Z.F., Cai, Z.T. and Zheng, Z.H., 2011, γ-aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense response of peach fruit, *Food Chemistry*, 129:1619-1622.

Zaharah, S.S. and Singh, Z., 2011, Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored 'Kensington Pride' mango, *Postharvest Biol Technol*, 60:202–210

Zanardo, D.I.L., Zanardo, F.M.L., Ferrarese, M.D.L.L., Magalhaes, J.R. and Filho, O.F., 2005.Nitric oxide affecting seed germination and peroxidase activity in canola (*Brassica napus* L.), Physiol. Mol. Biol. Plants, 11: 81-86.

Zhang, M., Tao, Q., Huan, Y.J., Wang, H.O. and Li C.L, 2002, Effect of temperature control and humidity on the preservation of Jufeng grapes, *International Agrophysics*, 16: 277-280.

Zheng, X., Tian, S., Gidley, M.J., Yue, H. and Li, B., 2006, Effects of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit, *Food Chemistry*, 96:519-523.

Zhou, Y., Li, S. and Zeng, K., 2016, Exogenous nitric oxide-induced postharvest disease resistance in citrus fruit to *Colletotrichum gloeosporioides*, *Journal of the science of food and agriculture*, 96:505-512.

Zhu, L.Q., Zhou, J., Zhu, S.H. and Guo, L.H., 2009, Inhibition of browning on the surface of peach slices by short-term exposure to nitric oxide and ascorbic acid, *Food Chemistry*, 114:174-179.

Zhu, S., Sun, L. and Zhou, J., 2009. Effects of nitric oxide fumigation on phenolic metabolism of postharvest Chinese winter jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao) in relation to fruit quality, LWT - *Food Science and Technology*, 42:1009-1014 114:174-179.

Zhu, S., Sun, L., Liu, M. and Zhou, J., 2008, Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage, *Journal of the Sci of Food and Agriculture*, 88:2324–2331.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 16, No. 2, June. July. 2020, p. 235- 249

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 16، شماره 2، خرداد- تیر 1399 ص. 249-235

Effect of Nitric oxide and storage temperature on maintenance quality of malas pomegranate arils

M. Mandegari[1], A. Mirzaalian dasgerdi[2*], L. Mosharaf[3], M. Tatari[4]

Received: 2019.03.19
Accepted: 2019.08.17

Introduction: Pomegranate (*Punica granatum* L.) is an important horticultural fruit which is generally very well adapted to the Mediterranean climate. Arils are the edible part of this fruit, being rich in anthocyanins and bioactive compounds such as phenolic compounds and flavonoids which act as antioxidants and free radical scavengers. Susceptibility to chilling injury in pomegranate fruits is a major limiting factor in storing fruits at low temperatures. Below 5 °C, pomegranate fruits show symptoms such as surface pitting, browning, discoloration and decay. The control of temperature is an effective tool for extending the shelf life of fresh horticultural products. Oxidative stress, as caused by an excess of reactive oxygen species (ROS), is usually associated with chilling injury in fruits. Nitric oxide (NO) is an important gas molecule, the involvement of which in many physiological processes can protect plant cells against oxidative stress by reducing the accumulation of ROS. Postharvest studies have shown that the application of NO gas can extend the storage life of a range of horticultural produce by delaying ripening or senescence. Due to the high number of pomegranate cultivars in Iran, limited amounts of information exist on how the qualitative characteristics of arils in the Malas pomegranate can be affected by nitric oxide and different temperatures during storage. The Malas cultivar comprises a large share of pomegranate exports from Iran. In this research, the positive effects of nitric oxide were examined on reducing the chilling injury and maintaining the fruit quality of pomegranate. The application of this treatment at different concentrations and different storage temperatures led to variable effects on the qualitative characteristics of arils in the Malas pomegranate.

Materials and methods: Malas pomegranate fruits were harvested commercially from Isfahan Province and were transferred to the Food Industry Laboratory of Isfahan Natural Resources Research. The fresh arils were separated from fruit tissues and were immersed in solutions of nitric oxide (0, 5 and 10 μM/L) for 5 min. After draining, the arils were placed in packaging films of polyethylene and were immediately stored at 2, 4 and 8 °C for 21 days. Several parameters were measured every 7 days during the storage time. These were the weight loss, total soluble solids, titratable acidity, TSS/TA, acid ascorbic, total phenol, total anthocyanin content, antioxidant activity, MA, ion leakage, POD, PPO activity and sensory evaluation. The current study was carried out as a factorial assay and was based on a completely randomized design with three replications. Data were processed by ANOVA using the SAS software version 9.4. Significant differences were identified using Duncan's test at 1% probability level.

Results and discussion: Results showed that the total anthocyanin content, total phenol, antioxidant activity and titratable acidity decreased during storage time. The control group and the treatment with low temperatures significantly reduced the qualitative characteristics of arils during storage. The water content of arils treated with 5 and 10 μM nitric oxide was maintained considerably for 21 days during storage. According to these results, unlike titratable acidity and ascorbic acid which decreased in both treated and untreated fruits, there was an increase in the total soluble solids and POD activity of arils during storage. However, nitric oxide reduced the rate of these changes, whether it be the decrease or increase in the measured parameters. During the experiment, the control samples showed lower values of quality regarding all parameters. The use of nitric oxide in fruits reduced lipid peroxidation and ion leakage significantly, whereas the antioxidant activity increased. The decrease in ion leakage was observed most notably in fruits that were treated with

1. Ph.D. student, post-harvest physiology and technology, Department of Horticulture, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Horticulture, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
3. Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.
4. Assistant Professor, Horticulture Crops Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.
(*Corresponding Author E-Mail Address: majiddastjerdy@gmail.com)

10 µM nitric oxide. Furthermore, low temperatures managed to disrupt the metabolic balance of reactive oxygen species, leading to the accumulation and destruction of antioxidant enzymes. In the present study, exogenous treatments with nitric oxide at 5 and 10 µM significantly reduced the lipid peroxidation content and electrolyte leakage of arils being stored at cold temperatures, compared to untreated arils. Nitric oxide suppressed the activity of polyphenol oxidase (PPO) and preserved the physical appearance and the internal quality of pomegranate arils. The decrease in phenolic compounds (29.32%) and antioxidant activity (39.91%), besides the increase in lipid peroxidation (38.37%) and ion leakage (36.98%), caused deteriorations in the appearance and organoleptic properties of the control samples. To alleviate these problems, nitric oxide has beneficial effects on maintaining the anthocyanin content of pomegranate arils by partially inhibiting PPO enzyme activity during storage. It prolongs the postharvest life, helps preserving the quality of pomegranate arils, suppresses the formation of ethylene, reduces the respiratory rate and controls weight loss, in addition to maintaining the firmness of fruits. Delaying the changes in peel color and TSS are also considered as useful effects of nitric oxide on pomegranate arils. Nitric oxide impeded the process of senescence by slowing down PPO-related activities, thereby maintaining the total phenolic content of pomegranate arils.

In conclusion, the application of nitric oxide was observed to reduce ion leakage and PPO activity in pomegranate arils, while also maintaining the quality of arils. Ultimately, the use of 10 µM nitric oxide at 8 °C can be suggested as the most optimum treatment herein.

Key words: Pomegranate arils, Nitric oxide, Polyphenol oxidase, Antioxidant activity, Fruit quality.